

EUROPEAN PATENT OFFICE

Patent Abstracts of Japan

PUBLICATION NUMBER : 01151514

PUBLICATION DATE : 14-06-89

APPLICATION DATE : 09-12-87

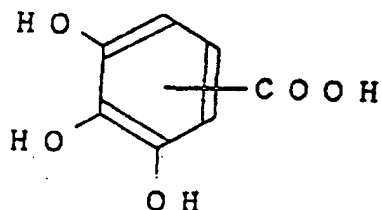
APPLICATION NUMBER : 62311248

APPLICANT : NICHIREI CORP;

INVENTOR : SHIRAISHI MASATO;

INT.CL. : A61K 31/19 A61K 31/60 // C07C 65/03

TITLE : TREATING AND PREVENTIVE AGENT  
FOR NEUROPATHY



ABSTRACT : PURPOSE: To obtain a treating and preventive agent for neuropathy caused by denaturation of neurocytes, containing a carboxylic acid or salt thereof as an active ingredient and capable of improving productivity of cells producing nervous growth factors.

CONSTITUTION: The aimed substance obtained by using a carboxylic acid expressed by the formula or salt thereof alone or in a mixture with a normally used carrier. The above-mentioned substance is preferably used as intravenous injection or drops. In this case, 0.1~20wt.% carboxylic acid is blended as an active ingredient. The dose thereof is 0.6~60mg per day. Gallic acid and pyrogallol-4-carboxylic acid are exemplified as the carboxylic acid. For example, the substance is useful for treating and preventing Alzheimer's dementia, Huntington's chorea, etc.

COPYRIGHT: (C)1989,JPO&Japio

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑪ 公開特許公報(A) 平1-151514

⑫ Int. Cl.<sup>4</sup>

A 61 K 31/19  
31/60  
// C 07 C 65/03

識別記号

AAA  
AAM

庁内整理番号

7330-4C  
7375-4C

⑬ 公開 平成1年(1989)6月14日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全5頁)

⑭ 発明の名称 神経疾患治療・予防剤

⑮ 特 願 昭62-311248

⑯ 出 願 昭62(1987)12月9日

⑰ 発 明 者 古 川 美 子 東京都小平市小川東町4-1-1 H-102

⑱ 発 明 者 白 石 真 人 東京都板橋区小茂根4-24-9

⑲ 出 願 人 株 式 会 社 ニ テ レ イ 東京都千代田区三崎町3丁目3番23号

⑳ 代 理 人 弁 理 士 小 林 和 憲

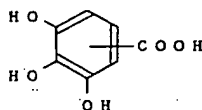
## 明 細 書

### 1. 発明の名称

神経疾患治療・予防剤

### 2. 特許請求の範囲

(1)



で表されるカルボン酸またはその非毒性塩を有効成分とする神経疾患治療・予防剤。

(2)カルボン酸が没食子酸である特許請求の範囲第1項記載の神経疾患治療・予防剤。

(3)カルボン酸がピロガロール-4-カルボン酸である特許請求の範囲第1項記載の神経疾患治療・予防剤。

(4)神経疾患が脳神経疾患である特許請求の範囲第1項記載の神経疾患治療・予防剤。

(5)脳神経疾患が脳神経細胞の変性に起因する神経疾患である特許請求の範囲第1項記載の神経疾患治療・予防剤。

患治療・予防剤。

(6)脳神経細胞の変性に起因する神経疾患が痴呆症である特許請求の範囲第5項記載の神経疾患治療・予防剤。

(7)痴呆症がアルツハイマー型痴呆症である特許請求の範囲第6項記載の神経疾患治療・予防剤。

### 3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、神経疾患治療・予防剤に関する。

(従来の技術)

ヒトの知的機能、記憶、感情、行動などの精神活動の維持には神経細胞が主要な役割を担っている。これら精神活動の基になっている神経細胞の分化、生存、機能発現には、それぞれの神経細胞に特異的な神経性栄養因子が必要であると考えられるが、推定の域をでない。唯一、存在および機能が明らかにされているのは、神経成長因子(以下NGFと略す)である。NGFは前脳基底部の大細胞性コリン作動性神経細胞の神経性栄養因子であることから、アルツハイマー型痴呆症との関

特開平1-151514(2)

連が注目されている(フデルマシア、Vol. 2, No. 2, 147~151(1986)、老年精神医学、Vol. 3, No. 6, 751~758(1986))。

アルツハイマー型痴呆症とは発音障害、鼻症状、下肢の強直拘攣、てんかん様発作などの臨床を伴い、老人性ブランク、アルツハイマー原線維変化などの病理学的所見を見る疾患であり、老人性痴呆の一病型である。近年の高齢化社会で増加の傾向が見られ、重大な社会的関心が払われているが、これといった症状の改善法、治療法が見つからない。

アルツハイマー型痴呆症患者脳には、マイネルト基底核を中心とする前脳基底部に顕著な変性、コリンアセチル基転位酵素(CAT)活性の著しい低下が認められている(Annu. Rev. Neurosci., 3, 77(1980))。1985年にラット脳を用いた研究で、NGFが脳のこの部位での神経性栄養因子であることが明らかにされ(EMBO J., 4, 1389(1985))。

またハンチントン病患者の脳の線索体では、GABA作動性神経細胞の脱落と共にコリン作動性神経細胞の脱落が著しく、NGFが線索体の内在性コリン作動性神経細胞にも作用することが明らかにされ(Science, 234, 1341(1986))。本疾患がNGFと関連している可能性が指摘されている。

さらにまた、各種の神経疾患のモデルとなり得るラットなどの動物でNGFの効果が研究され、ラットでは神経細胞の変性が顕著になる以前にNGFを脳内投与すれば、変性を食い止めることができ、CAT活性の低下も助げることが報告されている(J. Neurosci., 6, 2155(1986)、Brain Res., 293, 305(1985)、Science, 235, 214(1986)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83, 9231(1986))。

本発明者らは、末梢の交感神経支配組織および

脳でNGFが生合成されていること、このNGFの生合成に末梢組織あるいは脳組織の間質細胞である線維芽細胞あるいはアストログリア細胞が各々重要な役割を担っていること証明した(J. Biol. Chem., 259, 1259(1984)、Biochem. Biophys. Res. Commun., 136, 57(1986))。また、この線維芽細胞やアストログリア細胞の産生するNGFの抗原性、分子量、等電点、生物活性は、従来よく研究されていた脳下腺NGFと同一であることを明らかにし、線維芽細胞(L-M細胞)およびアストログリア細胞の培養液に種々の神経伝達物質を加えると、カテコラミン(ノルエピネフリン、エピネフリン、ドーパミン)がNGF合成促進効果を示すことを見出した(J. Biol. Chem., 261, 6039(1986)、Febs. Lett., 208, 258(1986))。

これら *in vitro* で得られた成果を治療薬として応用するに当たっての最大の問題は、これ

らNGFを誘導させる物質を確実に脳内のNGF産生細胞に到達させる新規な技術の開発である。(発明が解決しようとする問題点)

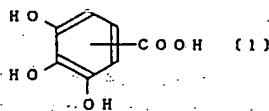
このように、NGFが神経性栄養因子として作用する部位が変性するこれらの神経疾患において、NGFは変性を食い止める治療薬として用いることができるのではないかと期待される。また脳血管障害、脳腫瘍、脳炎、頭部外傷変性疾患、麻酔薬中毒など神経細胞が一旦変性に陥れば、生還回復することがなく、その結果、知的機能低下、記憶障害のみならず、感情障害、行動異常など様々な障害を引き起こすが、神経線維には可塑性があり、損傷を受けると、その付近の健全な線維から発芽が起こり、障害されたシナプスに変わって新しいシナプスが形成されるので、この時NGFが神経機能の修復再生を促す治療薬として用いることができるのではないかと期待される。

しかしながら、NGFを各種神経疾患の治療に応用しようとした場合、NGFはNGFを必要とする神経細胞の極く近傍に達していなければなら

ないし、中枢神経疾患の場合も脳細胞の患部にNGFを送り届けなければならないが、血管系を通してNGFを脳内に送り込むことはできない。なぜならば、脳内の血管内皮細胞は、互いに密着結合で結合しており（脳血液関門という）、水、ガス、脂溶性物質以外の物質の血液から脳組織への移行は制限を受けているからであり、高分子物質である蛋白質（NGFも含む）はまったく脳血管関門を通ることが出来ないからである。このNGFを直接脳内に外科的手法を用いて投入することは、現在の技術をもってしても危険が大き過ぎる。（問題点を解決するための手段）

本発明者らは、上記の種々の問題を解決すべく鋭意研究を続けた結果、有効成分として血中に投与された場合、脳内の細胞に確実に到達でき、かつNGFを産生する脳内アストログリア細胞を活性化する低分子化合物を見出すことに着目し、種々検索した結果、カテコールの類縁体である没食子酸が顕著なNGF誘導能を有することを見出し、本発明を完成した。

即ち、本発明は、式



で表されるカルボン酸またはその非毒性塩を有効成分とする神経疾患治療・予防剤である。

本発明に用いられるカルボン酸(1)は、それ自体公知の化合物であって、没食子酸、ピロガロール-4-カルボン酸が例示される。上記の非毒性塩としては、ナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩、オルチニン、アルギニン、リジンなどの塩基性アミノ酸との塩などが挙げられる。他の公知の塩も包含される。

カルボン酸(1)またはその非毒性塩を神経疾患治療・予防剤として用いる場合には、単独または薬剤として許容し得る担体と混合して投与される。その組成は投与経路や投与計画などによって

決定される。

投与量は患者の年齢、健康状態、体重、症状の程度、同時処理がある場合は、その種類、処理頻度、所望の効果の性質などにより決定される。

投与形態は非経口的投与、例えば静脈注射、点滴による静脈注射による投与が好ましい。

治療量は一般に非経口投与で0.6～60mg/日である。

非経口的に投与する場合、カルボン酸(1)またはその非毒性塩は溶液を等張にするために、食塩またはグルコースなどの他の溶質を添加した無菌溶液として使用される。

注射用の適当な溶剤としては、滅菌水、生理食塩水、ブドウ糖、静脈内注射用液体、電解質溶液（静脈内注射用）などが挙げられる。これらの注射液の場合には、通常0.1～2.0重量%の有効成分を含むのがよい。

本発明の有効成分は、薬理効果量と比較して毒性が低く、連続投与が可能である。例えば、マウスを用いた皮下投与による急性毒性値(LD<sub>50</sub>)

は、90mg/kgである。

本発明の神経性疾患治療・予防剤は、NGF産生細胞のNGF産生能を向上させることにより、神経細胞の死に起因する神経疾患、例えばアルツハイマー型痴呆症、ハンチントン病などの治療または予防に有用である。

〔実施例〕

次に、実験および実施例を挙げて本発明を具体的に説明する。

#### 実験例 1

L-M細胞におけるNGFの誘導効果

L-M細胞（線維芽細胞）は0.5%ペプトン（ギブコ社製）を含む199培地（フロー社製）で培養維持し、試験に用いる場合には、細胞密度が $2 \sim 4 \times 10^4$  細胞/cm<sup>2</sup> となるように24穴培養皿（ファルコン社製）にまき、37℃で約3日間培養して、ほぼコンフルエント（約 $10^5$  細胞/cm<sup>2</sup>）になった時に、0.5%牛血清アルブミン（アモール社製）を含む199培地に試験品を所定の濃度に溶解した溶液0.5mlを加

特開平1-151514(4)

えた。24時間後に培養上清を集め、NGF濃度を酵素免疫測定法(S. Furukawa等、J. Neurochem., 40, 734(1983))により測定した。測定値は被験品を含まない培養上清中のNGF濃度(400~800 pg/ml)に対する倍率として求め、4回の測定値の平均値±標準偏差として算定した。

被験品として没食子酸およびピロガロール-4-カルボン酸を使用してNGF含量の増加倍率を測定した結果は第1図の通りであって、L-M細胞におけるNGFの誘導体は、没食子酸(—○—)を使用した場合は、0.02~0.07 mMの濃度で5~6倍の顕著なNGF産生誘導能を示し、ピロガロール-4-カルボン酸(—●—)を使用した場合は、0.04 mMの濃度で約4倍のNGF産生誘導能を示した。

実験例 2

アストログリア細胞におけるNGFの誘導効果  
アストログリア細胞は、8日令ICR系マウスの全脳より単離し(S. Furukawa等、B.

iochem. Biophys. Res. Commun., 136, 57(1986))、10%牛胎児血清(ギブコ社製)を含むDulbecco's modified Eagle's 培地(DMEM, フロウ社製)で培養維持し、対数増殖期の細胞で試験する場合は、 $2 \sim 4 \times 10^4$  細胞/cm<sup>2</sup> になるように24穴培養皿にまき、約3日後に $1 \sim 2 \times 10^4$  細胞/cm<sup>2</sup> になった時に被験品を10%牛胎児血清を含むDMEMで溶かし、添加した。静止期の細胞で試験する場合は、 $2 \sim 4 \times 10^4$  細胞/cm<sup>2</sup> になるように24穴培養皿にまき、ほぼコンフルエント(約 $10^4$  細胞/cm<sup>2</sup>)になった時に牛胎児血清の代わりに0.5%牛血清アルブミンを含む培地に置き換え、約2週間培養した後に被験品を添加した。

NGF濃度の測定はL-M細胞の場合と同様に行った。

被験品として没食子酸およびピロガロール-4-カルボン酸を使用してNGF含量の増加倍率を測定した結果は第2図の通りであって、アストロ

グリア細胞におけるNGFの誘導効果は、没食子酸(—○—)を使用した場合は、0.05~0.1 mM濃度で7~8倍の顕著なNGF産生誘導能を示し、ピロガロール-4-カルボン酸(—●—)を使用した場合は、0.2 mMの濃度で約4倍のNGF産生誘導能を示した。

実験例 1

注射用製剤

没食子酸

6 mg

添加物

4.5 mg

計

5.1 mg

上記の割合で混合した後、注射用蒸留水に溶解し、無菌的に5 mlずつバイアル瓶に分注して凍結乾燥し、注射用製剤を調製する。本注射用製剤は、用時注射用蒸留水に5 mlに溶解する。

実験例 2

注射用製剤

ピロガロール-4-カルボン酸 6 mg

添加物

4.5 mg

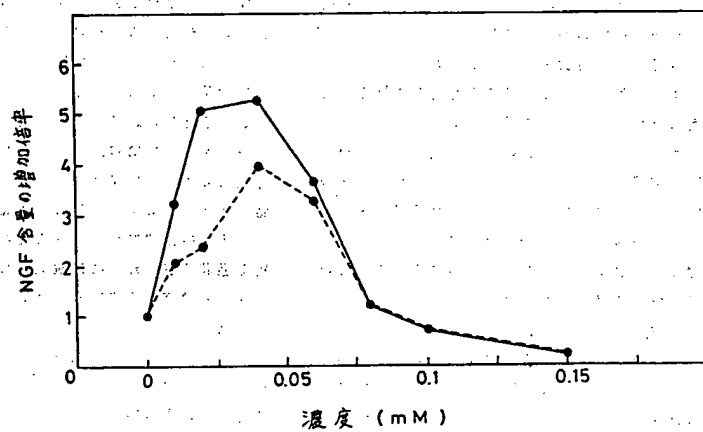
計 5.1 mg

上記の割合で混合した後、注射用蒸留水に溶解し、無菌的に5 mlずつバイアル瓶に分注して凍結乾燥し、注射用製剤を調製する。本注射用製剤は、用時注射用蒸留水に5 mlに溶解する。

4. 図面の簡単な説明

第1図はL-M細胞における神経成長因子の誘導効果を示す曲線、第2図はアストログリア細胞における神経成長因子の誘導効果を示す曲線である。

第1図



第2図

